

**Projet COMMET : Caractérisation des COMMunautés Microbiennes participant à la biogéochimie du MERCure dans les sédiments de la rade de Toulon : diversité, distribution et réponse aux contaminations métalliques multiples**

*Rapport Scientifique*

Porteur du projet : Benjamin Misson (PROTEE)

Le projet COMMET avait pour objectif de déterminer l'identité, la diversité et la distribution des microorganismes (bactéries et archées) capables de transformer le mercure, l'un des principaux polluants s'accumulant dans les sédiments de la rade de Toulon.

Dans un premier temps, les analyses se sont concentrées sur des échantillons archivés au laboratoire PROTEE, pour lesquels une importante caractérisation géochimique a été réalisée par l'équipe CAPTE du laboratoire PROTEE. Après un important protocole de mise au point d'extraction d'ADN et d'amplification par PCR réalisé par plusieurs stagiaires de DUT génie biologique et M1 STEM de l'université de Toulon, deux gènes de transformation du mercure ont été identifiés dans les sédiments de la rade : le gène *merA*, codant pour une enzyme permettant de réduire le mercure divalent en mercure élémentaire, et le gène *hgcA*, codant pour une enzyme permettant de transformer le mercure divalent en méthylmercure. Ces deux gènes sont exclusivement microbiens, portés par des bactéries et des archées.

L'étude de la distribution de ces deux gènes a révélé leur omniprésence dans le sédiment de l'ensemble de la rade de Toulon, des darses les plus enclavées au Nord jusqu'à son ouverture sur le large au Sud-est. Ainsi, le potentiel d'export du mercure (transformation en Hg élémentaire volatile via l'enzyme codé par *merA*), présent en excès du fait des activités anthropiques, vers l'atmosphère puis vers d'autres écosystèmes via l'activité des microorganismes existe en tout endroit de la rade de Toulon, des zones les plus saines aux zones les plus contaminées. Il en est de même pour le potentiel de production de méthylmercure, composé hautement neurotoxique représentant un risque sanitaire majeur.

En raison de verrous technologiques persistants, une analyse quantitative précise sur la distribution de ces deux gènes dans la rade de Toulon n'a pas pu être réalisée. Néanmoins, une analyse quantitative relative a tout de même démontré que le gène codant pour la méthylation du mercure (*hgcA*) semblait davantage présent dans les sédiments profonds (20cm) que dans les sédiments de surface. Il est pour le moment impossible de déterminer l'origine exacte de ces variations en fonction de la profondeur, deux hypothèses sont actuellement étudiées : l'effet structurant de la diagénèse précoce qui conditionne notamment le potentiel d'oxydoréduction dans les sédiments et la diversité des communautés microbiennes, et la toxicité potentielle des contaminants inorganiques dont la concentration varie fortement en fonction de la profondeur.

La diversité microbienne a été évaluée dans les sédiments de surface, en collaboration avec les laboratoires LASEM (Marine Nationale, Toulon), IPREM (Université de Pau), LOMIC (CNRS, UPMC, Banyuls-sur-Mer) et MARBEC (IRD, Université de Montpellier). Cette étude a démontré le fort pouvoir structurant de la contamination chimique de sédiments, dont la contamination en mercure et méthylmercure, sur les bactéries et archées benthiques. Ces communautés sont

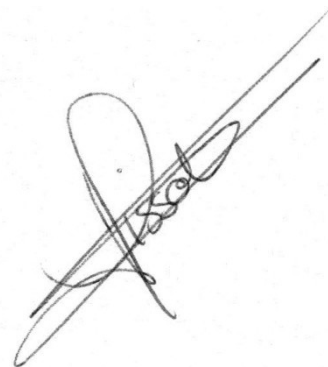
apparues bien adaptées à la pollution. Le projet COMMET a en parallèle permis de démontrer la présence historique du gène *merA*, permettant la résistance des bactéries à une contamination au mercure, dans des sédiments enfouis à plus de 75cm dans la rade de Toulon. La présence de ce gène dans des sédiments qui se sont déposés il y a plus de 350 ans démontre que le potentiel d'adaptation des microorganismes à ce contaminant était présent bien avant l'accumulation massive de contaminants chimiques, notamment de mercure dans les sédiments. Ce résultat suggère que la présence de ce gène a pu contribuer à l'adaptation et à la persistance des microorganismes en dépit des forts apports anthropiques.

L'analyse de la diversité de séquence des gènes *merA* et *hgcA* est en cours pour évaluer l'influence de l'historique d'accumulation de la contamination chimique dans les sédiments de la rade sur la capacité potentielle des microorganismes à transformer le mercure. Cette analyse est actuellement réalisée en collaboration avec le Dr Alexandre Poulain (Université d'Ottawa, spécialiste de la géomicrobiologie du mercure) qui apporte son expertise au développement d'outils moléculaires adaptés. Cette analyse est réalisée sur une carotte de sédiments prélevée dans le cadre de ce travail avec l'appui de la marine nationale. La carotte actuellement en cours de caractérisation chimique et biologique. La comparaison des données issues de ces sédiments frais à celles issues des sédiments lyophilisés conservés à long terme permettra de finaliser la mise au point méthodologique préalable à l'acquisition des résultats de diversité.

Enfin, vu le degré de contamination de la rade de Toulon et l'apparente adaptation des communautés microbiennes à la contamination par le mercure, des tests d'isolement d'organismes résistants sont en cours, en collaboration avec A. Poulain, afin d'explorer les mécanismes d'adaptation sélectionnés au sein des communautés microbiennes de la rade de Toulon.

Les différentes actions initiées dans le cadre du projet COMMET ont donc contribué au développement d'une nouvelle expertise en écologie microbienne au sein du laboratoire PROTEE. Au-delà des résultats préliminaires énoncés ci-dessus, ce projet a servi de base à une nouvelle collaboration internationale et se prolonge via diverses actions dans les projets PREVENT et MERMEX. Les résultats de ces travaux de recherche ont contribué à alimenter 3 communications orales et plusieurs communications affichées dans des congrès internationaux ou nationaux et des séminaires locaux. Les différentes analyses de diversité mentionnées font l'objet d'une publication soumise (Misson B., Garnier C., Lauga B., Dang D.H., Ghiglione J.F., Mullot J.U., Duran R., Pringault O. Links between chemical composition and prokaryotic diversity in the sediment of an anthropized marine coastal environment - submitted in Science of the Total Environment) et deux en préparation.

B. Misson

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'B. Misson', is written over a faint, light-colored rectangular stamp or watermark.